



University of Groningen

## Lymphotropic Herpesvirus infection and malignant lymphoma, immunological aspects of cytomegalovirus and Epstein- Barr virus infections

Napel, Christianus Hubertus Henricus ten

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1979

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Napel, C. H. H. T. (1979). Lymphotropic Herpesvirus infection and malignant lymphoma, immunological aspects of cytomegalovirus and Epstein- Barr virus infections. s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

human peripheral blood T cells with  
(1977). Antibodies against cytomegalo-  
pressed renal allograft recipients. *Clin.*

antigens in lymphocytes patients with  
skin's disease. *Int. J. Cancer* **21**, 683.  
Epstein-Barr virus infection in a child  
oliferation associated with a selective

## SAMENVATTING, BESCHOUWING EN KONKLUSIES

In de voorgaande hoofdstukken van dit proefschrift werd de oorspronkelijke chronologische volgorde van het onderzoek aangehouden. Maar in dit deel wordt hiervan afgeweken en zullen de resultaten worden samengevat en besproken volgens onderstaande indeling:

- I. Cytomegalovirus (CMV)-specifieke immuunresponse en daarmee samenhangend onderzoek bij gezonden en bij patienten met akute CMV infecties.
- II. Epstein-Barr virus (EBV)-specifieke immuunresponse en daarmee samenhangend onderzoek bij gezonden en bij patienten met mononucleosis infectiosa (MI).
- III. Vergelijking van de bevindingen (I, II) bij gezonden en patienten met acute CMV- of EBV infecties (MI).
- IV. CMV-specifieke immuunresponse en daarmee samenhangend onderzoek bij maligne lymfomen.
- V. EBV-specifieke immuunresponse en daarmee samenhangend onderzoek bij maligne lymfomen.
- VI. Slotbeschouwing.

### I. CMV-specifieke immuunresponse en daarmee samenhangend onderzoek bij gezonden en bij patienten met akute CMV infecties

#### A. Gezonde individuen

##### 1. De CMV-lymphocyten reactiviteits (LR) test

Toevoeging van gezuiverd, door verhitting geïnactiveerd CMV (AD 169) aan perifere bloedlymfocyten *in vitro* veroorzaakte DNA synthese by lymfocyten afkomstig van gesensibiliseerde personen gekenmerkt door CMV antistoffen in hun serum. Deze lymfocyten reactiviteit (LR), gemeten door middel van <sup>3</sup>H-thymidine inbouw, was dosis-afhankelijk met een optimale response na 6 dagen. De CMV-LR bleek door vergelijking met LR tegen andere virale antigenen (EBV, Herpes simplex virus) virus-specifiek en had derhalve het karakter van een secundaire immuunresponse *in vitro* (hoofdstuk I; zie ook: hoofdstuk IV).

##### 2. Relatie tussen CMV-LR en CMV antistof response

Bij CMV-seronegatieve, gezonde individuen (LA<sup>-</sup>EA<sup>-</sup> serotype) was de CMV-LR test negatief. Bij seropositieven met LA antistoffen, maar geen EA

antistoffen ( $LA^+EA^-$ ) was de CMV-LR test in het algemeen negatief of zwak positief, terwijl bij  $LA^+EA^+$  individuen meestal sterk positieve LR test resultaten werden gevonden (hoofdstuk I en V; deel I, tabel 2).

### 3. *Relatie van CMV-specifieke immuunresponses met de leeftijd*

Bij oudere individuen ( $\geq 60$  jaar) was de incidentie van het  $LA^+EA^+$  serotype het grootst, in samenhang met de hoogste gemiddelde EA antistof titers. Dit ging gepaard met een significant verlaagde CMV-LR vergeleken met jongeren ( $< 60$  jaar) van het  $LA^+EA^+$  serotype (hoofdstuk V, deel I, tabel 3).

## B. Akute CMV infecties

### 1. *Ontwikkeling van CMV-specifieke immuniteit*

De ontwikkeling van CMV-LR na acute CMV infecties bleek, ten opzichte van het ontstaan van CMV antistoffen, meestal vertraagd te zijn. Er was een individueel variabel tijdsinterval tussen het begin van de ziekteverschijnselen en het positief worden van de CMV-LR test. Eenmaal positief, bleef de test dit gedurende de follow-up periode terwijl slechts in één geval sprake was van het vroegtijdig weer negatief worden van de CMV-LR test, waarbij de CMV antistoftiters niet daalden (hoofdstuk V, dl. I, tab. 1, no. 16). In het algemeen liepen de individuele veranderingen van CMV-specifieke humorale en cellulaire immuniteit (d.w.z.: antistoffen en LR) niet parallel terwijl er eveneens geen duidelijke relatie bestond tussen de CMV-specifieke immuniteit en CMV uitscheiding (hoofdstuk V, dl. I).

### 2. *De algemene cellulaire immuunstatus*

Door middel van LR tests met stimulatie door bakteriële antigenen of door mitogenen bleken er bij CMV infecties, met name in de akute fase ( $< 50$  dagen na begin van de ziekte), gedifferentieerde stoornissen van de cellulaire immuniteit te bestaan (hoofdstuk V, dl. II, tab. 3). Tegenover een sterk gestoorde Concanavoline A (Con A)- en Pokeweed mitogeen (PWM)-geïnduceerde LR tijdens de akute fase en daarna, stond slechts een geringe vermindering van de gemeten LR tegen phytohemagglutinine (PHA). De PHA-LR stoornis was beperkt tot de akute fase en betrof alleen de response tegen de lage PHA concentratie ( $1 \mu\text{l/ml}$ ). Het verschil tussen PHA- en Con A-LR wijst mogelijk op een stoornis in het functioneren van bepaalde T lymfocyten subpopulaties tijdens akute CMV infecties omdat deze mitogenen verschillende T cellen stimuleren (Strelkauskas e.a., 1978). Naast gestoorde functie of een verminderd aantal van bepaalde T cellen in de circulatie, zou aktivatie van suppressor cellen hierbij een rol kunnen spelen.

in het algemeen negatief of zwak  
tal sterk positieve LR test resul-  
tel I, tabel 2).

#### Samenhang met de leeftijd

entiteit van het LA<sup>+</sup>EA<sup>+</sup> serotype  
middelste EA antistof titers. Dit  
IV-LR vergeleken met jongeren  
dstuk V, deel I, tabel 3).

#### Conclusie

infekties bleek, ten opzichte van  
vraagde te zijn. Er was een indivi-  
n de ziekteverschijnselen en het  
al positief, bleef de test dit ge-  
n één geval sprake was van het  
IV-LR test, waarbij de CMV  
ab. 1, no. 16). In het algemeen  
-specifieke humorale en cellu-  
iet parallel terwijl er eveneens  
specifieke immuniteit en CMV

bakteriële antigenen of door  
e in de akute fase (< 50 dagen  
ssen van de cellulaire immuni-  
egenover een sterk gestoorde  
een (PWM)-geïnduceerde LR  
n geringe vermindering van de  
) De PHA-LR stoornis was  
onse tegen de lage PHA con-  
Con A-LR wijst mogelijk op  
T lymfocyten subpopulaties  
genen verschillende T cellen  
rde functie of een verminderd  
ou aktivatie van suppressor

Er werd eveneens een sterke en langdurige stoornis aangetroffen van de  
anamnestische lymphocyten response tegen bakteriële antigenen *in vitro*.  
Parallel hiermee werd bij de patienten een opmerkelijk hoog aantal, voorname-  
lijk bakteriële, superinfekties aangetroffen (hoofdstuk V, dl. II, tab. 2). Dit  
wijst op een stoornis in de anti-microbiële afweer die samenhangt met de  
immunosuppressie ten gevolge van de CMV infectie. Verhoogde gevoeligheid  
voor bakteriële superinfekties is beschreven bij experimentele CMV infectie  
van de muis (Hamilton, Overall & Glasgow, 1976), maar ook in bepaalde  
klinische situaties bij de mens. Hoewel CMV infectie bij transplantatie patien-  
ten onder immunosuppressieve therapie wel gepaard gaat met verhoogde  
gevoeligheid voor bakteriële superinfekties (Chatterjee e.a., 1978; Rand e.a.,  
1978), is van een natuurlijke infectie, perinatale CMV, beschreven dat deze niet  
met verhoogde superinfektie morbiditeit gepaard gaat (Granstrøm & Leiniki,  
1978). (Zie ook: IIIB).

### 3. Samenhang tussen CMV-specifieke cellulaire immuniteit (CMV-LR) en de algemene cellulaire immuunstatus

De ontwikkeling van CMV-LR vertoonde een zekere samenhang met het her-  
stel van de algemene cellulaire immuniteits stoornis, afgemeten aan vermin-  
derde LR tegen mitogenen en bakteriële antigenen. In individuele gevallen  
bleek de CMV-LR zich echter eerder te ontwikkelen en was dan ook al sterk  
positief bij individuen met overigens nog een uitgesproken stoornis van hun  
algemene cellulaire immuun response *in vitro*, met name van LR tegen bak-  
teriële antigenen (hoofdstuk V, dl. II). Een dergelijke dichotomie tussen virus-  
specifieke en niet-virus-specifieke (algemene) LR is ook aangetroffen bij CMV  
infectie van de muis (Kelsey e.a., 1978). De stoornissen van de algemene  
cellulaire immuunstatus en de ontwikkeling van CMV-LR vormen kennelijk  
beide, op het eerste gezicht tegengestelde, uitingen van immuno-regulatoire  
processen tijdens akute CMV infectie. Mogelijk is bij deze infectie sprake van  
een vorm van antigene competitie tussen CMV en andere antigenen, zoals ook  
werd verondersteld voor mononucleosis infectiosa (Mangi e.a., 1974).

## II. EBV-specifieke immuunresponse en daarmee samenhangend onderzoek bij gezonden en bij patienten met mononucleosis infections (MI)

### A. Gezonde individuen

De techniek van de EBV-LR test vormt een modificatie van een oorspronkelijk  
door Gerber & Lucas beschreven methode (1972). Na toepassing van gezuiverd  
natief EBV van de P3HR1 cellijn (wat niet in staat is B cellen te transformeren)

in een LR test ter controle van de specificiteit van de CMV-LR test (hoofdstuk I), werd verder door verhitting geïnactiveerd EBV gebruikt (zie: hoofdstuk III) waarvan de eigenschappen beschreven zijn in hoofdstuk IV. Evenals de CMV-LR test bleek de EBV-LR techniek antigeen dosis-afhankelijk, was de optimale DNA synthese meetbaar op de 6e dag na stimulatie *in vitro*, en was de test virus-specifiek. Dit werd het best geïllustreerd door "cross-over" onderzoek met CMV bij gezonden met alleen of EBV-, of CMV antistoffen en door het waarnemen van een conversie van negatief naar positief van zowel EBV antistoffen als EBV-LR bij een tevoren EBV seronegatieve controle persoon na een primaire EBV infectie (hoofdstuk IV, fig. 1 en 2).

Hoewel een positieve EBV-LR test alleen kon worden aangetoond bij EBV seropositieve individuen (hoofdstuk IV, fig. 1) kon er geen duidelijke relatie worden gevonden tussen het EBV-LR test resultaat en de EBV-VCA antistof titer (zie ook: hoofdstuk I).

## **B. Akute primaire EBV infectie (mononucleosis infectiosa)**

### *1. Ontwikkeling van de EBV-specifieke immuunresponse*

Terwijl in alle onderzochte gevallen de VCA antistoffen al bij de eerste test na het ontstaan van de ziekteverschijnselen van MI konden worden aangetoond, werd bij 7/15 patienten in de akute fase ( $\leq 21$  dagen) een negatieve EBV-LR test opgemerkt. Deze werd echter in alle onderzochte gevallen positief en bleef dit gedurende de vervolg-periode tot 480 dagen toe (hoofdstuk IV, tab. 1). De mediane sterkte van de EBV-LR, gemeten bij reconvalescente MI patienten, was niet alleen groter dan die van de akute-fase MI patienten, maar ook groter dan de mediane EBV-LR van EBV seropositieve controle personen (hoofdstuk IV, tab. 2).

### *2. Relatie van EBV-LR test resultaten met de algemene cellulaire immuunstatus*

Evenals bij akute CMV infecties werden ook bij MI passagère, gedifferentieerde stoornissen van de algemene cellulaire immuunstatus aangetroffen. Met name was de *in vitro*-LR tegen Con A en PWM sterker gestoord dan tegen PHA. Op groepsbasis waren de PHA-LR testresultaten niet significant verschillend tussen acute fase en reconvalescentie. Wel was er een vermindering van de LR tegen een lage dosis PHA tijdens de acute fase ten opzichte van de controle waarden. Daarnaast bestond een sterk gestoorde LR tegen niet-EBV verwante antigenen in de akute fase. De algemene cellulaire immuniteits-onderdrukking van de akute fase normaliseerde volledig in de reconvalescentie vergeleken met de gezonde controles (hoofdstuk IV, tab. 2). Er leek op groepsbasis een zekere samenhang te bestaan tussen ontwikkeling van EBV-LR en

V-LR test (hoofdstuk  
kt (zie: hoofdstuk III)  
IV. Evenals de CMV-  
elijk, was de optimale  
*in vitro*, en was de test  
cross-over" onderzoek  
antistoffen en door het  
van zowel EBV anti-  
ntrole persoon na een

aangehouden bij EBV  
geen duidelijke relatie  
de EBV-VCA antistof

a)

al bij de eerste test na  
worden aangetoond,  
en negatieve EBV-LR  
vallen positief en bleef  
dstuk IV, tab. 1). De  
scente MI patienten,  
ten, maar ook groter  
personen (hoofdstuk

cellulaire immunstatus  
agere, gedifferentieer-  
us aangetroffen. Met  
r gestoord dan tegen  
niet significant ver-  
er een vermindering  
e ten opzichte van de  
e LR tegen niet-EBV  
cellulaire immuniteits-  
n de reconvalescentie  
2). Er leek op groeps-  
ting van EBV-LR en

herstel van de gestoorde algemene cellulaire immuniteits tests (hoofdstuk IV, tab. 3).

### III. Vergelijking van de bevindingen (I, II) bij gezonden en patienten met akute CMV- of EBV infecties (MI)

#### A. Virus-specifieke immuniteits tests

Zowel CMV- als EBV-LR waren bij gezonde normale individuen gerelateerd aan het vóórkomen van virale antistoffen tegen respectievelijk CMV-LA en EBV-VCA. De ontwikkeling van de CMV en EBV-LR na akute CMV infectie en MI was vertraagd ten opzichte van die van de corresponderende virus-specifieke antistoffen bij de meeste patienten. Hoewel in beide ziektemodellen er een zekere samenhang werd gezien tussen virus-specifieke LR ontwikkeling en herstel van de stoornissen van de algemene cellulaire immunstatus, bleek met name uit het beloop bij akute CMV infectie dat de kinetiek van beide processen bij individuele beschouwing duidelijk verschilde (hoofdstuk IV, tab. 1 en 3; hoofdstuk V, dl. II, tab. 1).

#### B. De stoornissen van de algemene cellulaire immunstatus tijdens akute CMV- en EBV infecties (MI)

De mate waarin de cellulaire immuniteit gestoord was kwam in beide virale infectie modellen overeen. Tijdens de akute fase was met name de LR tegen niet-virale antigenen, Con A en PWM sterk verminderd terwijl de PHA-LR niet, of nauwelijks, gestoord was. Het herstel van de stoornissen verliep trager en leek ten opzichte van de bevindingen bij de gematchte controles minder volledig bij akute CMV infecties dan bij MI. Het is de vraag of dit te wijten is aan: immunologische verschillen van de onderzochte patienten groepen (1) of aan verschil in immunopathologische eigenschappen van beide virussen (2).

1. Het leeftijds verschil tussen MI patienten (mediaan 18 jaar) en patienten met akute CMV infecties (46) kan van invloed zijn omdat veroudering van het immunologisch apparaat gepaard gaat met een zekere achteruitgang van cellulaire functies (Kishimoto e.a., 1978). Zo is bij oudere MI patienten ook de lymphocytenproliferatie-response *in vivo* verminderd ten opzichte van die bij jongeren (Carter e.a., 1978). Behalve functionele veroudering van het immuunsysteem zou daarnaast beschadiging door *summation van negatieve biologische effecten* (infecties, immunologische processen) een rol kunnen spelen. In dit verband is het van belang dat de "immunologische voorgeschie-

denis" van akute CMV patienten aanzienlijk meer belast was dan die van de MI patienten. In de CMV groep bestond de meerderheid uit patienten met een posttransfusie syndroom na open hart operatie. Daaronder was een aantal patienten met een geïmplanteerd corpus alienum in de vorm van een kunstklep (hoofdstuk V, dl. I/II, tab. 1, no. 5, 6, 8 en 15) en/of een door acuut reuma beschadigd endocard (no. 6, 8, 11 en 15). De akute EBV infecties daarentegen werden gezien bij een groep – tevoren gezonde – jongeren en jonge volwassenen.

2. Aktieve virale vermeerdering kan door middel van virus excretie na zowel MI (Epstein & Achong, 1977) als CMV infecties (Krech, Jung & Jung, 1971) nog maanden- of zelfs jarenlang worden aangetoond. Het verschil in *immunosuppressieve werking* tussen CMV- en EBV infecties kan samenhangen met het verschil tussen CMV en EBV in affiniteit voor cellen die bij de immuun response betrokken zijn. CMV heeft een affiniteit voor monocytën, lymfocyten (Rinaldo e.a., 1978) en granulocyten (Fiala e.a., 1975) terwijl EBV uitsluitend B lymphocyten infecteert (Jondal & Klein, 1973). Immunosuppressie kan ook de verklaring zijn voor de klinische waarneming dat de lymfoproliferatie (lymfeklier vergroting) minder uitgesproken is bij akute CMV infecties dan bij MI (voor een literatuuroverzicht zie: Langenhuisen, 1970).

#### IV. CMV-specifieke immuunresponse en daarmee samenhangend onderzoek bij maligne lymfomen

##### A. De ziekte van Hodgkin (ZvH)

###### 1. CMV antistoffen en CMV-LR

De incidentie en titerhoogte van LA en EA antistoffen was bij ZvH patienten niet significant verschillend van die bij "gematchte" controles (hoofdstuk II, tab. 2). De CMV-LR was daarentegen bij LA-seropositieve patienten duidelijk verlaagd (hoofdstuk II, tab. 3) terwijl in individuele gevallen een samengaan van hoge CMV antistoftiters met negatieve CMV-LR werd aangetroffen (tab. 1, fig. 1). Het aantal patienten met een LA<sup>+</sup>EA<sup>+</sup> serotype en een positieve CMV-LR test was dan ook beduidend lager dan bij gezonde controles (tab. 4).

###### 2. Relatie van CMV-LR met stoornissen van de algemene cellulaire immuunstatus

Ondanks de aanwezigheid bij patienten met ZvH van duidelijk verminderde LR tegen mitogenen (behalve PWM) en niet-CMV-verwante antigenen, kon

st was dan die van de  
eid uit patienten met  
Daaronder was een  
n in de vorm van een  
n 15) en/of een door  
De akute EBV infek-  
n gezonde - jongeren

us excretie na zowel  
n, Jung & Jung, 1971)  
nd. Het verschil in  
nfekties kan samen-  
eit voor cellen die bij  
ffiniteit voor mono-  
en (Fiala e.a., 1975)  
ndal & Klein, 1973).  
linische waarneming  
r uitgesproken is bij  
verzicht zie: Langen-

angend onderzoek bij

s bij ZvH patienten  
roles (hoofdstuk II,  
patienten duidelijk  
len een samengaan  
angetroffen (tab. 1,  
en positieve CMV-  
oles (tab. 4).

cellulaire immuun-

elijk verminderde  
e antigenen, kon

er - behalve voor de hoge dosis (5 µg/ml) Con A - geen duidelijke positieve relatie van deze stoornissen met de virus-specifieke LR worden vastgesteld (hoofdstuk II, tab. 5 en 6).

## B. Non-Hodgkin lymfomen (NHL)

### 1. CMV antistoffen en CMV-LR

Hoewel de incidentie niet verschilde waren de titers van CMV-EA en LA antistoffen gemiddeld lager bij NHL patienten dan bij controle personen, met name significant voor LA antistoffen (hoofdstuk II, tab. 2). Ook in de NHL patienten groep was de gemiddelde CMV-LR bij LA seropositieven verlaagd, hadden degenen met het LA<sup>+</sup>EA<sup>+</sup> serotype minder vaak een positieve CMV-LR test dan gezonde controles, en werd in veel individuele gevallen een hoge LA (hoofdstuk II, tab. 1) of EA antistof titer (tab. 1, fig. 1) gezien in combinatie met negatieve CMV-LR.

### 2. Relatie van CMV-LR met de algemene cellulaire immuunstatus

De algemene cellulaire immuniteit was bij de NHL patienten groep aanzienlijk minder ernstig gestoord dan bij ZvH patienten (hoofdstuk II, tab. 3), alleen de Con A-LR was significant verlaagd. Er werd geen relatie gezien tussen de verlaagde CMV-LR en andere cellulaire immuun parameters *in vitro* (hoofdstuk II, tab. 6) met inbegrip van het percentage circulerende T lymfocyten.

## V. EBV-specifieke immuunresponse en daarmee samenhangend onderzoek bij maligne lymfomen

### A. De ziekte van Hodgkin (ZvH)

Bij deze patienten werd, naast een normale incidentie, een significante verhoging van de VCA antistoftiters gevonden (hoofdstuk III). De EBV-LR was aanmerkelijk verlaagd en negatieve EBV-LR tests werden aangetroffen bij individuele patienten met de ZvH die hoge VCA antistof titers hadden (hoofdstuk III, tab. 2, fig. 1).

### B. Non-Hodgkin lymfomen (NHL)

Er werd geen significante verhoging van de VCA antistoffen, noch een significante verlaging van de EBV-LR in deze NHL groep aangetroffen. Wel kon in individuele gevallen een negatieve EBV-LR test worden gevonden in samenhang met een hoge VCA antistof titer worden gezien terwijl het aantal positieve



EBV-LR responders bij EBV seropositieve NHL patiënten beduidend lager was dan bij gezonde controle personen (hoofdstuk III, tab. 1, fig. 1).

Bij maligne lymfomen (ML) kon geen relatie worden aangetoond tussen de EBV-LR test resultaten en de algemene cellulaire immuunstatus (hoofdstuk III, tab. 4). Door vergelijking van EBV- en CMV-LR tests bij ML patiënten met antistoffen tegen beide virussen, bleek dat de resultaten in een aanzienlijk aantal individuele gevallen discordant waren. Het bovenstaande ondersteunt het virus-specifieke karakter van de gevonden stoornissen van EBV- en CMV-LR bij patiënten met ML (hoofdstuk II).

## VI. Slotbeschouwing

Door toepassing van de in dit proefschrift beschreven methoden voor bepaling van virale antistoffen en lymfocyten reactiviteit op gezonde individuen en op patiënten met akute CMV infecties, kon een aantal immunologische reactiepatronen worden vastgesteld. Deze patronen karakteriseren de onderlinge relaties van virus-specifieke humorale- en cellulaire immuniteit en de algemene cellulaire immuunstatus.

1. *Gezonde CMV seronegatieven* ( $LA^-EA^-$ ) zijn in het algemeen jonge individuen met een negatieve CMV-LR test ( $LR^-$ ), die kennelijk nog geen primaire CMV infectie hebben doorgemaakt ( $LA^-EA^-LR^-$ ).
2. *Na primaire CMV infectie* vernadert het immunologisch patroon eerst in  $LA^+EA^+LR^-$  met daarbij een tijdelijke stoornis van de algemene cellulaire immuun status ( $CIS^-$ ), gedurende de vroege akute fase. Vervolgens, tijdens de late akute fase en reconvalescentie fase, wordt het  $LA^+EA^+LR^+/CIS^-$  patroon aangetroffen.
3. *De post-reconvalescentie periode* wordt gekenmerkt door normalisatie van de cellulaire immuun status en in deze periode wordt vooral het  $LA^+EA^+LR^+/CIS^+$  patroon aangetroffen. Dit laatste kan: (a) zich, misschien wel jarenlang, handhaven of, zoals bij enkele patiënten (b) is aangetoond (hoofdstuk V, dl. I, tab. 1, no. 15 & 16) veranderen tot:  $LA^+EA^+LR^-/CIS^+$ , waarbij de CMV-LR negatief wordt. (c) Waarschijnlijk wordt pas later gedurende het leven het  $LA^+EA^-LR^-/CIS^+$  patroon gevonden wanneer zowel de serologische tekens van CMV replikatie, nl.: de EA antistoffen (The e.a., 1977; Gerna e.a., 1978), als *in vitro* cellulaire immuniteit tegen CMV (CMV-LR) niet meer aantoonbaar zijn.
- (d) Bij bepaalde ouderen werd het  $LA^+EA^+LR^-$  patroon gevonden (hoofdstuk V, dl. I, tab. 2 & 3). Deze combinatie van serologische aanwijzingen voor CMV replikatie ( $EA^+$ ) met een negatieve CMV-specifieke cellulaire

patienten beduidend lager (III, tab. 1, fig. 1).

en aangetoond tussen de immunusstatus (hoofdstuk V, R tests bij ML patienten) en resultaten in een aanzienlijk overstaande onderstreept verschil van EBV- en CMV-

methoden voor bepaling van gezonde individuen en op immunologische reactie-kenmerken de onderlinge immuniteit en de algemene

et algemeen jonge indivi- nelijk nog geen primaire

logisch patroon eerst in n de algemene cellulaire e. Vervolgens, tijdens de LA<sup>+</sup>EA<sup>+</sup>LR<sup>+</sup>/CIS<sup>-</sup> pa-

et door normalisatie van oor het LA<sup>+</sup>EA<sup>+</sup>LR<sup>+</sup>/ missschien wel jarenlang, pond (hoofdstuk V, dl. I, S<sup>+</sup>, waarbij de CMV-LR gedurende het leven het el de serologische tekens (1977; Gerna e.a., 1978), ) niet meer aantoonbaar

troon gevonden (hoofd- ologische aanwijzingen MV-specifieke cellulaire

response bij oudere individuen kan op twee manieren verklaard worden. Verlies van CMV antigeen herkenning door lymfocyten zou, via verminderde cellulaire anti-virale afweer, CMV reactivatie kunnen veroorzaken met als gevolg: toename van de virale antistof productie. Het is echter ook mogelijk, dat de bij ouderen gevonden negatieve CMV-LR het gevolg is van secundaire CMV infectie (reactivatie of re-infectie). Uit de gegevens van het onderzoek bij akute CMV infecties blijkt immers dat deze patienten zowel uit primaire als secundaire CMV infecties bestonden (hoofdstuk V, dl. I). De afwezigheid van CMV-LR in de vroege akute fase bij CMV-infectie (LA<sup>+</sup>EA<sup>+</sup>LR<sup>-</sup>) kan daarom zowel onvoldoende ontwikkeling (primaire infectie) als tijdelijke onderdrukking van de T memory functie (secundaire infectie) betekenen.

Het is niet duidelijk of de verhoogde CMV antistoffen slechts gevolg zijn van een "booster" effect door toename van CMV antigenen of dat de humorale hyperreactiviteit ook een kompensatoire functie ten opzichte van de verminderde cellulaire virus-specifieke immuniteit bezit.

De relatie van bovengenoemde bevindingen in de normale situatie, dat wil zeggen: niet met tumor-ontwikkeling samenhangend, met die bij patienten met maligne lymfomen wordt weergegeven door tabel 1.

Hoewel er partiële stoornissen van de algemene cellulaire immunusstatus voorkwamen, werd bij CMV-seropositieve ML patienten overwegend het LA<sup>+</sup>EA<sup>+</sup>LR<sup>-</sup>/CIS<sup>+</sup> patroon gevonden. Dit verschilt van de patronen bij akute CMV infecties en van die bij gezonde individuen (tab. 1), maar het past wel goed bij

Tabel 1 Dominante patronen van CMV-specifieke humorale (LA, EA antistoffen) en cellulaire (LR) immuun response en van de algemene cellulaire immunusstatus (CIS) bij normale individuen en patienten met maligne lymfomen (ML).

Normale individuen		ML patienten	
Jong	LA <sup>-</sup> EA <sup>-</sup> LR <sup>-</sup> /CIS <sup>+</sup>	LA <sup>-</sup> EA <sup>-</sup> LR <sup>-</sup> /CIS <sup>+</sup>	} vroeg stadium
Primaire CMV infectie	<div> <div>vroege akute</div> <div>late akute</div> <div>fase &amp; reconv. phase</div> </div> LA <sup>+</sup> EA <sup>+</sup> LR <sup>-</sup> /CIS <sup>-</sup>	LA <sup>+</sup> EA <sup>+</sup> LR <sup>+</sup> /CIS <sup>-</sup>	
Post reconvalescent	<div> <div>vroeg</div> <div>later</div> </div> LA <sup>+</sup> EA <sup>+</sup> LR <sup>+</sup> /CIS <sup>+</sup>	LA <sup>+</sup> EA <sup>-</sup> LR <sup>-</sup> /CIS <sup>+</sup>	
Ouderen	LA <sup>+</sup> EA <sup>+</sup> LR <sup>-</sup> /CIS <sup>+</sup> *)	LA <sup>+</sup> EA <sup>+</sup> LR <sup>-</sup> /CIS <sup>+</sup>	
Reaktivatie	LA <sup>+</sup> EA <sup>+</sup> LR <sup>-</sup> /CIS <sup>-</sup>	LA <sup>+</sup> EA <sup>+</sup> LR <sup>-</sup> /CIS <sup>-</sup>	
			} gevorderd stadium

\*) De algemene cellulaire immunusstatus van deze groep was normaal (niet gepresenteerd in hoofdstuk V).

het patroon zoals dat bij ouderen werd aangetroffen. Het  $LA^+EA^+LR^-/CIS^-$  patroon moet beschouwd worden als gevolg van verdere verslechtering van de immuunstatus door tumorgroei in een gevorderd stadium. Dit patroon wordt ook aangetroffen bij CMV infecties, dat wil zeggen in de vroege akute fase van zowel primaire CMV infectie als reaktivatie.

Het onderzoek was ten aanzien van EBV minder uitgebreid door beperkingen in de serologische en virologische methoden. Met name is de relatie tussen veroudering, EBV-immuunresponse en EBV reaktivatie niet onderzocht.

- a. Bij gezonde donoren werden de volgende immunologische patronen gezien:
  - $VCA^-LR^-$  vòòr primaire EBV infectie en (hoofdstuk IV)
  - $VCA^+LR^-/CIS^-$  kort erna, terwijl later het  $VCA^+LR^+/CIS^+$  patroon werd aangetroffen. Dit laatste was ook het dominante patroon van EBV seropositieven ( $VCA^+$ ), hoewel bij een minderheid het  $VCA^+LR^-/CIS^+$  patroon bestond.
- b. Bij ML patienten was het  $VCA^+LR^-/CIS^+$  patroon het meest voorkomend (hoofdstuk III).

De immunologische patronen van ML patienten geven aanwijzingen voor het bestaan van een virus-specifiek defect in de CMV- en/of EBV-gerichte antigeen herkenning dat bij deze patienten kennelijk al vroeg in het ziektebeloop aanwezig is. Mogelijk wordt het defect ten aanzien van EBV bij de ZvH door versterkte antistofproductie (VCA) gekompenseerd. Bij NHL patienten is dit laatste, mogelijk door stoornissen in de humorale afweer, niet het geval: CMV (LA) antistoffen waren bij deze patienten zelfs aanzienlijk verlaagd.

Als oorzaak van de bij ML patienten gevonden defekten in de natuurlijke afweer tegen de onderzochte lymfotrope herpesvirussen, kunnen de volgende mogelijkheden worde overwogen:

#### (1) *Genetische defekten*

Er zijn aanwijzingen voor genetisch bepaalde en familiair voorkomende stoornissen in de immunologische afweer tegen EBV. Bij verwanten van patienten met maligne tumoren, waaronder patienten met lymforeticulaire maligniteiten, werden verhoogde antistoftiters tegen het EBV-VCA aangetroffen (Levine e.a., 1974). Eveneens zijn er T cel functie stoornissen gevonden bij verwanten van patienten met lymfoïede tumoren (Dworsky e.a., 1978) en bij gezonde tweelingen waarvan de partner was overleden aan de ZvH (Björkholm e.a., 1977). Een stoornis van de EBV-gerichte immunologische afweer kan ernstige gevolgen hebben zoals in sporadische gevallen is waargenomen (Bar e.a., 1974; Britton e.a., 1978; Virelizier e.a., 1978). Mogelijk is een subtieler genetisch immuundefekt de oorzaak van het uitgroeien van door EBV getransformeerde

en. Het  $LA^+EA^+LR^-/CIS^-$  verdere verslechtering van de stadium. Dit patroon wordt n in de vroege akute fase van

uitgebreid door beperkingen et name is de relatie tussen tivatie niet onderzocht.

nologische patronen gezien: (hoofdstuk IV)

t  $VCA^+LR^+/CIS^+$  patroon ominante patroon van EBV erheid het  $VCA^+LR^-/CIS^+$

roon het meest voorkomend

even aanwijzingen voor het en/of EBV-gerichte antigeen eg in het ziektebeloop aan n EBV bij de ZvH door ver- Bij NHL patienten is dit ale afweer, niet het geval: fs aanzienlijk verlaagd. fekten in de natuurlijke af- ussen, kunnen de volgende

miliair voorkomende stoor- ij verwanten van patienten nforeticaire maligniteiten, A aangetroffen (Levine e.a., evonden bij verwanten van 78) en bij gezonde tweeling- vH (Björkholm e.a., 1977). afweer kan ernstige gevol- genomen (Bar e.a., 1974; is een subtieler genetisch oor EBV getransformeerde

B cellen tot lymfoom op latere leeftijd. Dit laatste is verondersteld voor de "X-linked" immunodeficiëntie door Purtillo e.a. (1977). Gestoorde anti-virale immuniteit en lymfoom-ontwikkeling kunnen ook samen het gevolg zijn van chromosomale afwijking of beschadiging. Anomalieën van het 14e chromosoom zijn zowel waargenomen bij het Burkitt lymfoom, ZvH, en NHL als bij de aangeboren immunodeficientie ziekte ataxia teleangiectasia (literatuur-overzicht, zie: Louie & Schwartz, 1978). Bij de laatste patienten groep is, naast een verhoogde incidentie van maligne lymfoïde tumoren (Louie & Schwartz, 1978), een ongebruikelijk EBV antistofpatroon, met o.a. verhoogde EBV-EA en -VCA antistof titers aangetroffen (Joncas e.a., 1977) mogelijk in samenhang met T cel functie stoornissen (Berkel e.a., 1979).

Uit experimenten bij de muis is gebleken dat de weerstand tegen CMV infecties wordt gereguleerd door met het H-2 complex-geassocieerde genen en daarom is het bestaan van genetisch bepaalde defekten van de CMV-specifieke afweer bij de mens eveneens te verwachten (Chalmer e.a., 1978).

## (2) Verworven afweerstoornissen

Verminderde LR *in vitro*, zou ook kunnen wijzen op een vroeg in het beloop van de ziekte *verworven defekt*. Dit kan onderdeel zijn van een zich later manifesterende gegeneraliseerde cellulaire immunodeficientie ten gevolge van de tumorgroei. Een alternatieve verklaring vormt de reaktivatie van latente, persisterende EBV en/of CMV infecties zelf. Naast het eigen onderzoek (hoofdstuk V, dl. II) zijn er klinische waarnemingen van verminderde virus-specifieke cellulaire afweer tijdens actieve CMV infecties (Rola-Pleszczynski e.a., 1977; Gehrz e.a., 1977). Immunologische stimulatie door tumor- of weefsel antigenen zouden reaktivatie van CMV of EBV infectie kunnen veroorzaken bij patienten met maligne lymfomen. Een dergelijk immunologisch mechanisme van reaktivatie wordt op grond van dierexperimentele bevindingen (Olding e.a., 1975; Cheung & Lang, 1977) ook voor CMV infectie van de mens van belang geacht nl. bij zwangerschap, niertransplantatie, postperfusie syndroom en tumorgroei (review: zie Lang e.a., 1976). De gestegen CMV infectie frequentie bij lymfoproliferatieve ziekten (Duvall e.a., 1966) zowel als de toegenomen EBV-excretie (Chang e.a., 1978) en de waargenomen EBV-antigeen expressie in lymfoïde organen van sommige ML patienten (Veltri e.a., 1978) wijzen op toegenomen aktivatie van de betrokken virussen bij bepaalde patienten.

Voor het onderzoek van de relatie tussen lymfotrope herpesvirussen en ML bij de mens is serologisch onderzoek, al of niet in combinatie met tests voor van de algemene immuunstatus, onvoldoende gebleken. Een beter inzicht wordt verkregen met de beschreven virus-specifieke LR testen voor het detecteren

van virus-gerichte cellulaire immuniteit die, zoals is aangetoond, onafhankelijk van de algemene cellulaire immuunstatus veranderen kan.

De immunologische beschouwingen over de relatie tussen maligne lymfomen (ZvH, NHL) en lymfotrope herpes virussen (EBV, CMV) laten nog enkele vragen onbeantwoord.

a. *Is de gestoorde virus-specifieke afweer tegen CMV en EBV een primair (genetisch) of een secundair (verworven) defekt?*

Door onderzoek in families met lymforetriculaire tumoren met behulp van de bovenbeschreven virus-specifieke immunologische technieken kan deze vraag worden benaderd.

b. *Wat zijn de eventuele secundaire gevolgen van CMV en EBV reaktivatie voor het beloop van de tumor ontwikkeling bij ML patienten?*

Door hun specifieke lymphotrope en immunosuppressieve eigenschappen zouden deze virussen van secundair pathogenetische betekenis kunnen zijn. Voor het verkennen van deze mogelijkheid is prospectief longitudinaal onderzoek bij ML patienten aangewezen.

c. *Is er in individuele gevallen toch een causale relatie tussen een lymfoïede tumor en CMV of EBV?*

In verband hiermee is naast onderzoek met de beschreven serologische en cellulaire immunologische technieken, fundamenteel onderzoek gewenst naar het voorkomen van virus DNA in tumor cellen. Naast hybridisatie technieken voor het detecteren van virus genoom, kan de anticomplementaire immunofluorescentie techniek voor het opsporen van nucleaire CMV en EBV antigenen in patienten materiaal worden gebruikt.

#### *Literatuur*

(Zie na: Summary, Considerations & Conclusions, pag. 100-102.)